Lane Medical Library

Aus der II. Universitätsklinik für Frauenkrankheiten und Geburtshilfe
Direktor: Univ.-Professor Dr. Franz Weber

STANFORD UNIVERSITY LIBRARY OCT 27 1930

Über serologische Verfahren zur Schwangerschaftsdiagnose unter besonderer Berücksichtigung der Alkohol-Extrakt-Reaktion nach Lüttge und v. Mertz

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin

verfaßt und einer Hohen
medizinischen Fakultät der

Bayer. Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Wilhelm Edelbrock
aus Iserlohn

München 1929
Universitäts-Buchdruckerei von Dr. C. Wolf & Sohn

Aus der II. Universitätsklinik für Frauenkrankheiten und Geburtshilfe
Direktor: Univ.-Professor Dr. Franz Weber

Über serologische Verfahren zur Schwangerschaftsdiagnose unter besonderer Berücksichtigung der Alkohol-Extrakt-Reaktion nach Lüttge und v. Mertz

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin

verfaßt und einer Hohen
medizinischen Fakultät der

Bayer. Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Wilhelm Edelbrock
aus Iserlohn

München 1929
Universitäts-Buchdruckerei von Dr. C. Wolf & Sohn

Gedruckt mit Genehmigung der medizinischen Fakultät
der Universität München

Referent:
Univ.-Professor Dr. Franz Weber

Meinen lieben Eltern
in Dankbarkeit gewidmet.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40153312_0292

Inhaltsverzeichnis.

Seite

I. Die Abderhalden'sche Reaktion und ihre Modifikationen 5
a) das Dialysierverfahren 5
1. Versuchsanordnung 5
2. Lehrmeinung und Kritik 7
b) Die optischen Verfahren 9
1. Die Polarimetrie 9
2. Die Interferometrie 10
c) Die Lüttge und v. Mertz'sche Modifikation (Alkohol-Substrat-Reaktion) 11
1. Versuchsanordnung 11
2. Lehrmeinung und Beurteilung 12

II. Die Alkohol-Extrakt-Reaktion 13
a) Technisches 13
1. Versuchsanordnung 13
2. Extraktbereitung 14
b) Zahlenaufstellung 19
c) Fehlerquellen und ihre Ursachen 20
d) Lehrmeinung und Beurteilung 22
e) Zusammenhang zwischen Abderhalden'scher Reaktion und Alkohol-Extrakt-Reaktion 25

III. Die v. Mertz'sche Trübungsreaktion 26
a) Versuchsanordnung 26
b) Zahlenaufstellung 27
c) Lehrmeinung 27

Die Alkohol-Extrakt-Reaktion nach Lüttge und v. Mertz hat sich aus der Abderhalden'schen Reaktion (1911) entwickelt. Sie gibt uns ein Mittel, das gestattet, auf serologischem Wege Schwangerschaft, Krebs und andere Krankheiten nachzuweisen. Auch das Geschlecht des Kindes haben Lüttge und v. Mertz schon bei dreimonatlichen Schwangeren bestimmt. Aber nicht nur diagnostischer Wert kommt dem Verfahren der beiden Leipziger Forscher zu, es hat mehr noch ein theoretisches Interesse für die chemische Zusammensetzung des Serums bei den verschiedenartigsten Krankheitsbildern. Vielleicht weisen die Untersuchungen in dieser Richtung im Laufe der Zeit auch einen Weg in das Gebiet der Therapie.

Die erste und wesentlichste Grundlage für die Alkohol-Extrakt-Reaktion bildet die Abderhalden'sche Reaktion. Nicht als ob sie erweitert oder verbessert worden wäre, sie ist vielmehr für Lüttge und v. Mertz nur von richtunggebender Bedeutung gewesen. Immerhin ist sie zum Vergleich und zur Erklärung der Alkohol-Extrakt-Reaktion notwendig und es soll daher soweit wie nötig darauf eingegangen werden. Abderhalden hat verschiedene Verfahren zur Serodiagnostik angewandt: Das Dialysierverfahren und die optischen Methoden. Für das Verständnis der Alkohol-Extrakt-Reaktion genügt die Schilderung des Dialysierverfahrens.

Abderhalden bediente sich zu seinen Versuchen einer Anzahl von Dialysierhülsen (aus tierischer Membran von der Firma Schleicher und Schüll). Diese werden gründlich mit Leitungswasser durchspült. Danach empfiehlt es sich, sie nur noch mit ausgeglühter Pinzette anzufassen, um sie möglichst steril zu erhalten. Auch die Abderhalden'schen Kölbchen (kleine Kölbchen nach Art eines Erlenmeyer), in denen der Versuch ausge-

führt wird, werden sterilisiert. Es folgt nun zunächst die Prüfung der Dialysierhülsen. Man gibt in eine Anzahl Kölbchen 20 ccm Aqua dest. und darin je eine Dialysierhülse, die zuvor sorgfältig auf Fließpapier getrocknet worden ist. Nehmen wir an, wir hätten auf diese Weise 12 Kölbchen hergerichtet, so füllen wir 6 dieser Hülsen mit 1,5 ccm 1 % Seidenpeptonlösung (Höchster Farbwerke) (I. Reihe), die übrigen Hülsen (II. Reihe) werden mit 1,5 ccm Normalserum gefüllt. Nun werden Außen- und Innenflüssigkeit gleich stark mit Toluol überschichtet, um ein Eindringen von Keimen zu verhüten. Die Kölbchen werden darauf 24 Stunden lang im Brutschrank unter 37 ° aufbewahrt.

Am nächsten Tag entnimmt man der Außenflüssigkeit eines jeden Kölbchens 10 ccm, pipettiert sie in ein Reagenzglas, gibt 0,25 ccm 1 % alkoholischer Ninhydrinlösung hinzu und kocht vorsichtig eine Minute lang auf (am besten mit Hilfe einer Stoppuhr). Tritt Blaufärbung auf, so ist die Hülse für Pepton bezw. Serum durchlässig. Diejenigen Hülsen, die für Pepton undurchlässig und für Serum durchlässig sind, scheiden aus. Ließen Hülsen Pepton durch, so werden diese jetzt in gleicher Weise wie oben, mit Serum angesetzt, nachdem man sie wieder gründlich ausgespült und getrocknet hat. Erweisen sie sich am nächsten Tage für Serum durchlässig, so scheiden sie wiederum aus. In der gleichen Weise werden nun die brauchbaren Hülsen der Reihe II auf ihre Durchlässigkeit für Pepton geprüft, für Pepton durchlässige, scheiden aus, sodaß wir endlich Hülsen übrig behalten haben, die für Pepton durchlässig und für Serum undurchlässig sind. Dieses Verfahren ist außerordentlich umständlich und zeitraubend. Ich habe in Leipzig an der Frauenklinik Sellheims, wo ich die Abderhalden'sche Reaktion zur Erlernung der Serodiagnostik auch ausgeführt habe, nach achttägigem Prüfen unter 20 drei brauchbare Hülsen gefunden.

Nun kommen wir zum Versuch der Abderhalden'schen Reaktion selbst. Man verfährt hierbei im allgemeinen genau so wie bei der Prüfung der Hülsen. In einer der brauchbaren Hülsen setzt man wie oben zunächst das zu untersuchende Serum als Kontrolle an, in einer zweiten das gleiche Serum mit einem

erbsengroßen Stückchen Substrat (Placenta, Carcinom oder Testes), das man vorher gründlich auf Fließpapier getrocknet hat. Nach 24stündigem Brutschrankaufenthalt prüft man mit Ninhydrin wie oben. Die Kontrollprobe muß negativ bleiben, da ja die Hülse für Serum undurchlässig ist; wird aber die Probe Serum + Substrat positiv, so ist das ein Zeichen dafür, daß durch das Substrat eine Spaltung des Serumeiweißes in kristalloide, also niedrig-molekulare Eiweißstoffe bewirkt worden ist, die durch die Hülse in die Außenflüssigkeit hindurchdiffundiert sind und in der Außenflüssigkeit mit Ninhydrin nachgewiesen wurden, während beim Kontrollversuch im Serum allein sich nur kolloide also nicht diffundierbare Stoffe befinden. Es hat nach Abderhalden ein Abbau des Serums stattgefunden. Er fand, daß Placentasubstrat Schwangerenserum, Carcinomsubstrat Serum Krebskranker und Testsubstrat Serum von Schwangeren, die ein männliches Kind trugen, abbauen mußte oder umgekehrt. Damit wäre der Nachweis der Schwangerschaft, des Carcinoms und des Geschlechts des getragenen Kindes erbracht.

Einer kurzen Erläuterung bedarf noch die Herstellung der Substrate. Placenta oder ein Carcinomtumor oder Hoden werden sorgfältig entblutet, dann sehr fein zerzupft, indem man sie von Bindegewebe und Gefäßen nach Möglichkeit befreit. Die so erhaltene Masse wird in einem Erlenmeyer Kolben 4—6 mal mit Aqua dest. aufgekocht, wobei nach jedesmaligem Kochen das Wasser abgeschüttet und das Substrat wieder neu mit Aqua dest. aufgefüllt wird. Nach viermaligem Kochen prüft man das Kochwasser mit Ninhydrin. Tritt keine Reaktion mehr ein, wird nochmals neu aufgefüllt und jetzt auf dem Wasserbade eine Stunde erhitzt, damit die Flüssigkeit möglichst klar wird. Das nunmehr verwendbare Substrat verschließt man mit einem sterilen Wattepfropfen.

Die Abderhalden'sche Reaktion ist von Abderhalden in mehr als 3000 Fällen mit gutem Erfolge ausgeführt worden (Abderhalden: Die Abderhalden'sche Reaktion S. 85). Er selbst führt sie darauf zurück, daß Schwangerenserum Placentasubstrat

abbaut (s. oben S. 84). Einige Jahre früher machte Schmorl in Halle die Beobachtung, daß während der Schwangerschaft blutfremde Zellen in der Blutbahn angetroffen werden, die von Chorionzotten stammen. Veit und Scholten wiesen eine embolische Verschleppung von Placentazellen bei 150 Fällen in der Lunge nach. (Zeitschrift für Geb. und Gynäk. Bd. 49 S. 210 zit. nach Lüttge und v. Mertz.) Für Abderhalden ergab sich nun die Frage, ob seine Reaktion mit dem Befunde von Scholten, Veit und Schmorl in Zusammenhang zu bringen sei. Er kam zu dem Ergebnis, daß zelleigene zusammengesetzte Zellinhaltsstoffe nebst zugehörigen Fermenten in die Blutbahn gelangen, die bei dem wahrscheinlich überstürzten Abbau von wuchernder Placenta im Blut frei werden (Abderhalden s. oben S. 83 84). Entsprechende Schlüsse zog Abderhalden auch für die Gegenwart von bösartigen Geschwülsten. Es gelang ihm, mit gutem Erfolge in vielen Fällen auch eine serologische Frühdiagnose des Carcinoms zu stellen. Desgleichen wollte er auch entsprechende Eigenschaften des Serums bei Infektionskrankheiten nachweisen, indem er von der Überlegung ausging, daß es sich auch bei den Erregern in den Geweben um fremdartige Zellen handelt, die andere zerstören und bewirken, daß in der Blutbahn zelleigene und daher blutfremde Bestandteile kreisen. So prüfte er die Einwirkung von Seren gesunder Individuen auf pulverisierte Tuberkelbazillen mit negativem Ergebnis. Der gleiche Versuch jedoch mit Serum von tuberkulösen Menschen und Tieren fiel positiv aus. (Abderhalden s. oben S. 89 90.) Die wirkende Ursache der Reaktion sind nach Abderhalden Zellinhaltsstoffe, die sich im Serum befinden und die die Fähigkeit haben, Zellen des gleichen Gewebes (Substrat) abzubauen. So ist der anfänglich eingeführte Begriff der Abwehrfermente von Abderhalden selbst wieder fallen gelassen worden. Er weist in diesem Zusammenhange die Frage auf, ob nicht neben diesen Veränderungen in der Bildung von Inkreten auch sonstige Störungen einhergehen, die zur Überführung von zelleigenen Zellinhaltsstoffen in die Blutbahn führen (Abderhalden s. o. S. 97). So konnte nach Abderhalden Abbau von Schilddrüsensubstanz

bei ihrer Erkrankung, ferner Abbau von Hypophyse, Ovarien, Hoden und Gehirnsubstanz in bestimmten Fällen nachgewiesen werden. In diesem Rahmen paßt auch vielleicht die Tatsache, daß man gewisse Geisteskrankheiten auf inkretorische Störungen zurückführt, die einen annormalen Abbau von Eiweißstoffen im Gehirn verursachen, ohne daß anatomische Veränderungen nachweisbar sind.

Kurzer Erwähnung bedürfen vielleicht noch der Vollständigkeit halber die optischen Methoden Abderhaldens. Es handelt sich hier um zwei grundsätzlich voneinander verschiedene Verfahren: die Polarimetrie, die auf Veränderung des Drehungsvermögens des Serumsubstratgemisches beruht, und die Interferometrie, die nach Veränderung des Brechungsvermögens obigen Gemisches fahndet.

Die Polarimetrie besteht darin, daß erst niedere Abbaustufen eines Eiweißkörpers optisch aktiv werden. So dreht z. B. d-Alanylglycin die Ebene des polarisierten Lichtes 50^0 nach rechts, Glykokoll hingegen ist optisch inaktiv, ein Baustein von der Zusammensetzung beider, d-Alanyl-glyzyl-glyzin, dreht um 30^0, das ist ungefähr das arythmetrische Mittel zwischen 0^0 und 50^0 (Abderhalden s. o. S. 162ff.). d-Alanin dreht in wässeriger Lösung nur $2{,}4^0$ rechts. Würde nun von einem Ferment bei obigen d-Alanyl-glyzyl-glyzin zuerst Glycyl (Glykokoll) abgespalten, dann würde das Dipeptid d-Alanyl-glycin frei, sodaß das Drehungsvermögen stärker (über 30^0) ansteigen würde, weil d-Alanyl-glycin stärker nach rechts dreht als das Ausgangsmaterial. Würde aber ein anderes Ferment erst d-Alanin abspalten, dann müßte das Drehungsvermögen rasch gegen 0 hin sinken, denn das entstehende Dipeptid Glycyl-glycin ist optisch inaktiv. Es erhellt hieraus, daß geringfügige Unterschiede in dem Drehungsvermögen der feinste Prüfstein auf die Zusammensetzung der Bausteine sind. Diese können aus entsprechenden Eiweißkörpern, die optisch aktiv und spezifisch sind, gewonnen werden. Es eignen sich am besten dazu Peptone. Sie werden erzeugt in der Natur durch Hydrolyse der Eiweißkörper, im Körper durch Fermente und im Laboratorium durch

Säuren, am besten Schwefelsäure, die sich als der gangbarste Weg darstellt, dem künstlichen Abbau der Eiweißkörper beizukommen. Diese Peptone werden in physiologischer Kochsalzlösung gelöst und mit Serum zusammengebracht. Dieses Gemisch wird in ein Polarisationsrohr gefüllt, das auf einer Temperatur von 37° erhalten wird. Serum und Peptonlösung werden zur Kontrolle noch einzeln polarisiert. Die Ablesung erfolgt dann von Zeit zu Zeit. Abderhalden hat gezeigt, daß die Fälle, bei denen keine Drehung stattfand, auch nach dem Dialysierverfahren negativ blieben.

Die Interferometrie geschieht mit Hilfe eines von Loewe konstruierten Flüssigkeitsinterferometers. Mit ihm mißt man das Wandern von Interferenzlinien, das durch den Unterschied in der Lichtbrechung der zu untersuchenden Probe und einer Vergleichsprobe bewirkt wird. (Abderhalden s. o. S. 171 ff.) Der Brechungsindex ändert sich mit der Konzentration. In einem Serum, das mit Substrat vorbehandelt wurde (das Substrat wird gut abzentrifugiert), hat sich die Zahl der Moleküle und damit die Konzentration geändert, und zwar nach den Kurven von Abderhalden nach 1, 3, 5, 7, 9stündiger Entwicklung von Substrat sehr unregelmäßig bald nach der höheren, bald nach der niederen Konzentrationsseite hin verschoben. Auf die Technik der ganzen Versuchsanordnungen soll nicht weiter eingegangen werden, da sie für das Verständnis der Alkohol-Extrakt-Reaktion ohne Belang sind. Es genügt hier nur die Feststellung, daß man auch auf anderen Wegen als dem des Dialysierverfahrens den Abbau von Eiweißkörpern im Serum nachweisen kann und damit zu entsprechenden Ergebnissen gelangen konnte. Jedoch zu einer praktischen Verwertbarkeit ist die Probe noch nicht gekommen; Streck-Würzburg, der sich sehr eingehend mit ihr befaßt hat, lehnt sie sowie ihre späteren Modifikationen ab. (Gynäk. Kongreß 3. Februar 1929 in München.)

Wenden wir uns nun wieder dem chemischen Nachweis der Abbaustoffe zu. Das Dialysierverfahren hat sich als sehr umständliches und langwieriges Verfahren herausgestellt, weshalb gerade auch seine klinische Verwertbarkeit immer in Frage ge-

stellt war. Die Hülsen wechseln in der Durchlässigkeit und müssen alle 14 Tage einer neuen Prüfung unterzogen werden. Die Diffusion nimmt volle 24 Stunden in Anspruch und so dauert die ganze Versuchsanordnung von der Blutentnahme bis zum endgültigen Ergebnis mindestens zwei Tage. Besonders eifrig hat man sich an der Klinik Sellheim zuerst in Halle, später in Leipzig mit der Vereinfachung der Abderhalden'schen Reaktion beschäftigt, bis es Lüttge und v. Mertz gelang, die Trennung von hochmolekularen und niedrigmolekularen Eiweißstoffen durch Alkohol vorzunehmen, indem sie das hochmolekulare (kolloide) Eiweiß ausfällten und abfiltrierten, während die kristalloiden Eiweißstoffe sich gelöst im alkoholischen Filtrat befanden. Im einzelnen gestaltet sich der Versuch wie folgt:

In zwei Reagenzgläser (Jenenser Glas) gibt man je 1 ccm vom zu untersuchenden Serum, dann bringt man in das eine ein erbsengroßes Stück Substrat (wieder gut auf Fließpapier trocknen und mit ausgeglühter Pinzette behandeln), das andere Reagenzglas bleibt wieder als Kontrollversuch frei von Substrat. Beide Gläser werden dann 24 Stunden im Brutschrank aufbewahrt.

Am nächsten Tage werden in beide Reagenzgläser (am praktischsten mit Hilfe eines automatischen Kippers) 10 ccm 96 % Alkohols dazu gegeben (es empfiehlt sich bei längerem Aufbewahren des Alkohols, sein spezifisches Gewicht mit Hilfe eines Alkoholometers von Zeit zu Zeit nachzuprüfen, da er leicht Wasser aufnimmt). Der so entstehende dicke weiße Niederschlag wird abfiltriert. Zu dem alkoholischen Filtrat gibt man 0,2 ccm Ninhydrin, kocht vorsichtig eine Minute mit Hilfe einer Stoppuhr auf (dabei ist zu beachten, daß der Kondensationsring nicht vor 30 bis 40 Sekunden aus dem etwa 18 bis 20 ccm langen Reagenzglase entweicht). Erfahrungsgemäß bringt dieses Kochen die größten Fehlerquellen mit sich. Nun gibt man sogleich aus einer Bürette einen Tropfen $^1/_{20}$ Normalsalzsäure hinzu, läßt eine Minute stehen und liest dann die Reaktion ab. Die Kontrolle muß wie oben immer negativ ausfallen. Bei Pro-

ben mit Hoden oder Ca-Substrat empfiehlt es sich noch länger zu warten (15—20 Minuten), da nach vollständiger Erkaltung eine eventuelle Verfärbung wieder zurückgehen kann. In Leipzig habe ich zwölf Proben mit Hilfe dieser Reaktion ausgeführt, von denen eine nur eine nicht typische Färbung erfuhr, sodaß die Diagnose schwer war. Außerdem habe ich davon sieben auf Geschlecht des Kindes geprüft, die alle richtig waren; auf Carcinom habe ich nach diesem Verfahren nicht untersucht.

Diese Alkoholsubstrat-Reaktion wie Lüttge und v. Mertz sie nannten, ist also lediglich eine modifizierte Abderhalden'sche Reaktion. Sie zeichnet sich durch größere Einfachheit und nach den Erfahrungen Sellheims in der Leipziger Frauenklinik auch durch größere Genauigkeit aus. Die wenigen Versuche, die ich mit ihrer Hilfe gemacht habe, gestatten mir in letzterem Punkte kein Urteil. Die Fortschritte aber bestehen darin, daß man nunmehr das ganze Hülsensystem Abderhaldens über Bord werfen kann und damit die umständliche und zeitraubende Prüfung der Hülsen, die immer Fehlerquellen in sich birgt. Der Aethylalkohol muß zwar in der vorgeschriebenen Dichte verwandt werden, da bei absolutem Alkohol eine Fällung auch der niedrig molekularen Eiweißstoffe eintritt, während bei stärker verdünntem die Ausfällung der höher molekularen noch kolloiden Eiweißstoffe nicht mehr vollständig ist. Es ist das Verdienst Lüttges und v. Mertz's, die richtige Dichte des Alkohols festgestellt zu haben, mit der dieselbe Trennung der Eiweißstoffe erreicht wird, die Abderhalden mit seinen Hülsen erzielte. Im Gegensatz zu der wechselnden Durchlässigkeit der Hülsen arbeitet man hier mit einem feststehenden und bekannten Trennungsmittel. Der Alkohol muß allerdings von Zeit zu Zeit auf seine Dichte nachgeprüft werden (s. oben). Außerdem erleidet das Serumsubstratgemisch bei der Abderhalden'schen Reaktion auch durch das Eintreten von Wasser in die Dialysierhülsen Veränderungen, die den ungestörten Abbau im reinen Serumsubstratgemisch leicht beeinflußen können. Auch diese weitere Fehlerquelle kann durch das Alkoholverfahren umgangen werden.

Immerhin war auch bei dem Alkoholverfahren Lüttges und v. Mertz's keine wesentliche Zeitersparnis gewonnen. Der Brutschrankaufenthalt mußte bleiben. Selbst die Fehlerquellen der Abderhalden'schen Reaktion waren keineswegs restlos ausgeschaltet. Es gelang nicht, das Substrat bis zu seinem Idealzustand bindegewebsfrei zu machen. Ein rein spezifisches Substrat herzustellen, war unmöglich. Außerdem konnte auch die Menge Substrat bei seinem wechselnden Wassergehalt nicht nach Gewicht genau bestimmt werden, man mußte sich mit der Bezeichnung „erbsengroß" begnügen, obwohl man sich bewußt war, daß darin eine Fehlerquelle lag. An und für sich ist auch die Herstellung der Substrate durchaus nicht immer fein genug, sie müssen sehr gründlich ausgekocht werden, sodaß sie ihre ursprüngliche Alkaleszenz verlieren und neutral bis schwachsauer reagieren. Erst dann tritt eine genügende Blaufärbung mit Ninhydrin ein.

Um nun die Nachteile, die die Verwendung des Substrates in sich birgt, zu umgehen, haben Lüttge und v. Mertz versucht, aus den Eiweißstoffen entsprechende Extrakte herzustellen und mit diesen Proben auszuführen. Das ist ihnen im Juli 1926 gelungen. Zahlreiche Proben sind seitdem in Leipzig mit dieser nach Lüttge und v. Mertz benannten Alkohol-Extrakt-Reaktion mit großer Sicherheit ausgeführt worden.

Im folgenden sei zunächst der Gang der Versuchsanordnung geschildert:

1 ccm Serum wird in einem Reagenzglas mit 1 ccm Extrakt versetzt und gut durchgeschüttelt. Mit oben erwähntem automatischen Kipper setzt man 10 ccm 98—99 % Alkohol hinzu, filtriert, versetzt das Filtrat mit 0,2 ccm Ninhydrin und kocht vorsichtig 1 Minute lang auf (wieder mit Hilfe der Stoppuhr, indem man die Angaben bei der Alkohol-Substrat-Reaktion beachtet). Sodann gibt man wie oben in die noch heiße Flüssigkeit einen Tropfen $^1/_{20}$ Normalsalzsäure, schüttelt einmal um und stellt nach 1 Minute den Grad der Färbung fest. Bei der Blut-

entnahme ist zu berücksichtigen, daß das Blut nicht auf den Boden des Reagenzglases auftropft, sondern in ruhigem Strome hineinfließt, da sonst leicht eine traumatische Hämolyse des Serums entsteht und Hämoglobin mit Ninhydrin dann leicht unter Blaufärbung reagiert und die Diagnose trüben würde. Das entnommene Venenblut läßt man dann über Nacht stehen. Das Serum wird am nächsten Tage vor der Untersuchung etwa eine Viertelstunde lang zentrifugiert. Pipetten, Reagenzgläser und Trichter brauchen nicht steril zu sein, da nunmehr ein längerer Brutschrankaufenthalt fortfällt; aber es ist trotzdem eine gründliche Säuberung der Reagenzgläser nach Gebrauch zu empfehlen. Man nimmt 98—99% Alkohol, um die Verdünnung durch das wässerige Extrakt wieder auszugleichen.

So ist die Abderhalden'sche Reaktion zu einem reinen Reagenzglasversuch geworden, der sich gut in einer halben Stunde ausführen läßt. Die Kontrollprobe fällt auch weg, es empfiehlt sich aber zum Vergleich eine Reihe negativer und positiver Seren zugleich anzusetzen. Auch die Lehrmeinung des Verfahrens ändert sich, nachdem wir hier einen fermentativen Vorgang, dessen Vorbedingungen Zeit und Wärme sind, ausschließen können, und man wird versuchen, diesen Versuch auf chemische Weise zu erklären. Wirksam ist dabei nicht mehr ein Organsubstrat, sondern Extraktivstoffe eines Organs, gepaart mit ganz bestimmtem Säure- und Salzgehalt des Extraktes, die sich in einem dispersen System vereinigen. Zur Erklärung dieses Versuches und der Zusammensetzung der Extrakte ist die Schilderung der Herstellung der Extrakte notwendig.

Zur Extraktbereitung ist zunächst eine gründliche Entblutung der betreffenden Organe, sowie eine sorgfältige Entfernung sämtlicher Hüllen und Bindegewebe erforderlich, um ein möglichst reines Organeiweiß zu erhalten. Placenta entblutet man zweckmäßig vier Stunden lang zunächst durch die Nabelschnur, indem man diese mit dem Hahn einer Wasserleitung verbindet. Man läßt dann gleichmäßig eine gehörige Menge Wasser durch die Gefäße laufen. Carcinomextrakt stellt man am besten aus einem noch nicht zerfallenen Carcinomtumor des

Uterus oder der Adnexe her. Er muß möglichst frisch und nicht schon unter Formalin aufbewahrt worden sein. Bei dieser Gelegenheit sei erwähnt, daß man die Versuche in einem Raum ausführt, in dem nicht mit Formalin gearbeitet wird, da seine Dämpfe den Ausfall der Proben erfahrungsgemäß beeinträchtigen. Der Carcinomtumor wird dann in Stücke zerschnitten, wobei man ihn gründlichst von fremden Bestandteilen befreit. Hoden schält man am besten aus seinen sämtlichen Hüllen heraus und spült auch die Hodensubstanz gut mit Wasser durch. Die Placenta wird nach ihrer Entblutung durch die Nabelschnur von sämtlichen Eihäuten und größeren Gefäßen befreit. Die so erhaltenen Organsubstanzen werden durch die Fleischmaschine gedreht, dann in einem sauberen Tuch mehre Male mit Wasser durchspült, zuletzt mit Perhydrol, das man auf die Hälfte mit Wasser verdünnt hat. Die Substrate werden nun schneeweiß. Man trocknet sie über Nacht auf Fließpapier und damit wäre der erste Schritt zum zweiten Akt, nämlich der Entwässerung, schon getan.

Zur weiteren Entwässerung bedient man sich zu gleichen Teilen absoluten Alkohols und Äthers, indem man in einem Fünfliter-Rundkolben das Substrat mit obigem Gemisch übergießt und reichlich 24 Stunden stehen läßt. Sodann kocht man weiter bis 48 Stunden den Rundkolben mit Inhalt auf dem Wasserbade, filtriert endlich die Flüssigkeit ab, spült mehre Male mit Äther nach, und setzt dann auf Fließpapier das Substrat der Verdunstung in freier Luft aus. Zum Kochen auf dem Wasserbade ist ein Rückfluß- oder Schlangenkühler empfehlenswert, der die verdunstenden Alkoholdämpfe wieder kondensiert und zur weiteren Verwertung zurückfließen läßt.

Es folgt jetzt die Entfettung der Substrate mit Äther im Soxlethapparat. Man füllt in eine Soxlethhülse aus Filtrierpapier das Substrat und verbindet den Apparat aus oben genannten Gründen mit einem Rückflußkühler. So wird in 24 bis 48 Stunden auf dem Wasserbade extrahiert, solange, bis die letzte Fraktion vollständig fettfrei ist, was man dadurch prüft, daß man etwa 10 ccm dieser Fraktion auf dem Wasserbade

verdunstet. Bleibt nicht der geringste Rückstand, dann kann man das Substrat absetzen und in erhöhter Temperatur trocknen. Das Substrat wird dann mit einem Mörtel zu einem Pulver verrieben.

Der vierte Teil der Extraktbereitung ist die Lösung der Substanz in Natronlauge. Dazu wiegt man die Substanz genau ab und versetzt sie mit $^1/_{10}$ ihres Gewichtes mit stickstoffreier, konzentrierter (33 %iger) Natronlauge (Kahlbaum) und füllt dann mit der zehnfachen Gewichtsmenge der Trockensubstanz mit Leitfähigkeitswasser (Kahlbaum) auf. Das Ganze wird nun mindestens 24 Stunden auf dem Wasserbade gekocht, bis die Substanz vollkommen gelöst ist. Das verdunstete Wasser wird durch neues Leitfähigkeitswasser von Zeit zu Zeit ersetzt. Wir bekommen so das dicke Extrakt, etwaige Rückstände werden durch ein sauberes Tuch abfiltriert. Das durch Verseifung des Organeiweißes entstandene dicke Extrakt hat infolge Überschusses an Natronlauge alkalische Reaktion, bei welcher noch ein großer Teil Eiweißstoffe gelöst ist, die bei neutraler Reaktion ausfallen würden. So stellt der fünfte Teil die Neutralisation des Extraktes dar.

Zu dem Filtrat wird aus einem Kölbchen, in dem konzentrierte Salzsäure (38 %) auf das Doppelte mit Leitfähigkeitswasser aufgefüllt ist, solange mit einer 10 ccm Pipette Säure hinzugegeben, bis sich ein grauer Eiweißniederschlag bildet; man muß achtgeben, daß dieser Punkt nicht überschritten wird; denn in überschüssiger Salzsäure löst sich der Niederschlag wieder auf. (Menge sehr verschieden, von einem Tropfen bis zu einigen Ballons.) Der Neutralisationspunkt wird auf einem mit Menthylrot gefärbten Stückchen Fließpapier genau festgelegt. (Rosafärbung.) Alsdann läßt man das Extrakt abstehen, bis sich der Niederschlag gesetzt hat. Dann wird mehre Male filtriert, bis das Extrakt ganz klar ist. Sollte es auch dann noch trübe bleiben, tut man gut, es nochmal auf dem Wasserbade aufzukochen, wobei dann meistens die Trübung verschwindet.

Ist das Extrakt nun vollständig klar, so wird eine Probe im Meßkolben mit Leitfähigkeitswasser aufgefüllt im Verhältnis

1 : 10 (z. B. 100 ccm Leitfähigkeitswasser auf 10 ccm dicken Extrakt). Davon gibt man eine Probe von 10 ccm in ein Abderhalden-Kölbchen, versetzt sie mit einem Tropfen Methylrot und titriert mit $^1/_{10}$ Normalsalzsäure oder $^1/_{10}$ Normalnatronlauge. Hat man den Titrationswert genau durch wiederholte Proben festgelegt, so muß man nun das Extrakt auf ein ganz bestimmtes P_h bringen. Damit kommen wir jetzt zur Einstellung der Extrakte. Das P_h eines unverdünnten Extraktes beträgt nach der Indikatorenmethode (Sörrensen) von Placenta 2,720, von Hoden 2,630 und von Carcinom 2,426 (nach den Berechnungen von Lüttge und v. Mertz). Diese Säure-Ionenkonzentration wird nach Lüttge und v. Mertz durch eine Säurezugabe bei Placenta von 0,027 %, bei Hoden von 0,029 % und bei Carcinom von 0,034 % erreicht. Sie entspricht also in der Reihenfolge dem oben erwähnten Fallen des P_h. Ebenso fällt ungefähr in dem gleichen Verhältnis die Menge des spezifischen Eiweißgehaltes der Extrakte, der nach Lüttge und v. Mertz für Placentaextrakt auf 0,7 %, für Testextrakt auf 0,49 % und für Carcinomextrakt auf 0,39 % berechnet worden ist. (Nach der Kjeldahl'schen Methode.) Wir haben also folgende Proportionen: Je höher der Säuregrad, desto niedriger der Eiweißgehalt der Extrakte. Das regelt sich automatisch dadurch, daß bei Mehrzugabe von Salzsäure um so mehr Eiweiß ausfällt. Fassen wir also das Extrakt als disperses System auf, so haben wir zunächst zwei Phasen: Die HCL-Ionenkonzentration und den spezifischen Eiweißkörper. Als dritte Phase kommt nun noch der Salzgehalt hinzu. Hier gelten die Hofmeister'schen Reihen und zwar ihre Umkehrung im neutralen Punkt. Davon soll später die Rede sein. Bevor wir nun von der Zusammensetzung der Extrakte auf die Lehrmeinung des Versuches selber kommen, wollen wir uns noch der endgültigen Fertigstellung der Extrakte zuwenden. Müssen wir z. B. zu einer auf $^1/_{10}$ verdünnten Lösung dicken Extrakts zur Neutralisation 0,15 ccm $^1/_{10}$ Normalnatronlauge hinzutitrieren, so brauchen wir zur Einstellung des Extraktes nun die Menge Salzsäure, die nötig ist, das Extrakt auf das erforderliche P zu bringen; d. h., wir müssen

auf 100 ccm also 0,027 g, auf unsere 10 ccm also 0,0027 g HCL hinzugeben. Das würden 0,75 ccm $^{1}/_{10}$ Normal-HCL sein. Da wir aber nach unserer Titration schon 0,15 ccm HCL in 10 ccm haben, so brauchen wir nur noch 0,60 ccm n 10 HCL hinzuzugeben. 100 ccm brauchen also 6 ccm n 10 HCL. Die Menge in Gewicht umgerechnet ergäbe sechsmal 0,0036 g HCL (1 ccm n 10 HCL enthält 0,0036 g HCL) = 0,0216 g HCL. Um nun eine Verdünnung des Extraktes nach Möglichkeit zu vermeiden, geben wir die 0,0216 g HCL in Form von konzentrierter Salzsäure hinzu. Diese hat einen Prozentgehalt von 38. 100 ccm sollen aber nun 0,0216 g enthalten. Nehmen wir 38 % Salzsäure, so müssen wir entsprechend weniger zusetzen, also $\frac{38}{0{,}0216}$ mal weniger. Wir erhalten also die Proportion: $100 : x = 38 : 0{,}0216$ oder $x = \frac{100 \cdot 0{,}0216}{38} = 0{,}057$ g. Es kommen also auf 100 ccm eines aufs zehnfache verdünnten Extraktes oder auf 10 ccm dicken Extrakt 0,057 g 38 % HCL. Haben wir nun von unserem dicken Extrakt z. B. 270 g übrig behalten, so müssen wir zu dieser ganzen Menge 27 mal 0,057 g 38 % HCL zugeben. Das ist 1,539 g konzentrierte HCL. Da man diese Menge zweckmäßig pipetiert, werden wir sie in Rauminhalt umrechnen, das spezifische Gewicht der konzentrierten Salzsäure ist 1,19, danach ist der Rauminhalt der HCL $v = \frac{1{,}539}{1{,}19}$ = 1,3 ccm HCL. Hat man nun diese Menge den 270 ccm dicken Extraktes zugesetzt, so wartet man, bis sich ein eventueller Niederschlag bildet, den man abfiltriert, denn wie oben erwähnt richtet sich die Eiweißmenge nach dem Säuregehalt: Je mehr Säure man zugibt, desto mehr Eiweiß wird ausgefällt, sodaß wir also bei jedem Säuregrad eine ganz bestimmte Eiweißmenge im Extrakt haben. Dieser Säuregrad, den wir jetzt erreicht haben, ist aber noch ungenau: Erstens durch Vernachlässigung bei der Rechnung und zweitens durch Titrationsfehler und drittens hat auch durch Verdunsten, Filtrieren und eventuelles Aufkochen das früher titrierte Extrakt in seinen Voraus-

setzungen gelitten. Die Säuremenge stimmt selten gerade für eine zehnfache Verdünnung genau. Deswegen müssen wir die Eiweißmenge in verschiedenen Verdünnungen empirisch durch Vergleich mit einem bekannten Extrakt regeln. Wir setzen also verschiedene Verdünnungen an: 1 : 8, 1 : 8,5, 1 : 9 usw. bis 1 : 12. Innerhalb dieser Grenzen wird sicherlich aber der richtige Verdünnungsgrad liegen. Auch empfiehlt es sich, nun noch einmal eine Verdünnung von 1 : 10 zu titrieren, um festzustellen, ob auch annähernd der vorgeschriebene Titrationswert erreicht wird.

Nun stellt man das Extrakt gegen sicher negatives und sicher positives Serum vergleichend mit einem bekannten Extrakt des öfteren ein, und die Verdünnung ist zu verwerten, die genau dieselben Farbunterschiede ergibt, wie die Proben mit dem bekannten Extrakt. Ist man nun seiner Sache ganz sicher, in dem man ein Extrakt gefunden hat, das ganz dem bekannten entspricht, dann verdünnt man die übrige Menge dicken Extraktes in diesem Verhältnis und hat so das gebrauchsfertige Extrakt bekommen. Dieses braucht jetzt nur noch in Ampullen gefüllt, zugeschmolzen und durch 20 Minuten langes Aufkochen sterilisiert zu werden. Ratsam ist, vor dem Einfüllen eine Probeampulle fertig zu machen und zu kochen, um festzustellen, ob das Extrakt nicht trüb wird. Ich habe auf diese Weise zweimal etwa je 400—500 Ampullen zu je 5 ccm Placentaextrakt hergestellt, mit denen ich meine Versuche ausgeführt habe.

An der Leipziger Frauenklinik (Sellheim) habe ich zur Erlernung der Alkohol-Extrakt-Reaktion und zur Verwertung derselben an der II. Universitätsklinik für Frauenkrankheiten und Geburtshilfe zu München (Prof. Weber) vom 25. Februar bis zum 20. März 1927 fünfzig Versuche mit Placentaextrakt ausgeführt, von denen 46 richtig waren. Die Fehlschläge sind sicherlich zum Teil auf die mir damals noch nicht geläufige Technik zurückzuführen; denn um zuverlässige Ergebnisse zu erzielen, ist eine reichliche Übung erforderlich. An der II. Universitätsklinik für Frauenkrankheiten und Geburtshilfe in München habe ich 72 Versuche nach der Alkohol-Extrakt-Reaktion ausgeführt,

davon verdienen drei eine besondere spätere Erwähnung. Von den übrigen 69 Proben waren 20 positiv und zwar Schwangerschaften vom zweiten bis zehnten Monat, davon drei Fehlschläge, von denen einer durch zu langes Kochen bedingt war und infolge mangels an Serum nicht wiederholt werden konnte. Der zweite war wahrscheinlich durch eine Lues mit festgestelltem positiven Wassermann verursacht (dies ist nach Lüttge und v. Mertz eine häufige Ursache von Fehlschlägen). Der dritte Fall ist leider ungeklärt geblieben. Eine nochmalige Blutentnahme war aus äußeren Gründen unmöglich. 41 Proben waren negativ und alle richtig. Die übrigen acht Fälle hatten eine Zwischenfärbung, die diagnostisch schwierig war. Von diesen war eine Probe eine Frühgravidität mit sechs Wochen, eine ein Abortus iminens mens II. Drei waren inkomplette Aborte, einer eine im Gang befindliche Geburt mit starker Wehentätigkeit. Ferner eine Parametritis mit Scheidencyste, Wa. R.? und der letzte eine Adnexitis, bei der ebenfalls die Wa. R. nicht gemacht wurde. In diesen Fällen habe ich die Diagnose Abortus, Geburt oder zu frühe Gravidität gestellt, die sich mit Ausnahme der beiden letzten Fälle bestätigte. Lediglich die Angabe der letzten Periode wird die Differentialdiagnose sichern. Von allen Versuchen hatte ich bei ihrer Ausführung keinerlei Anhaltspunkte für die klinische Diagnose.

Drei Fälle sollen noch besonders berührt werden. Es waren Fälle, bei denen der Versuch leicht positiv wurde oder nur eine ganz leichte Verfärbung auftrat. Die beiden ersten standen unter Eigenblutbehandlung, die eine künstliche Hämolyse des Serums, damit wahrscheinlich durch das austretende Hämoglobin auch einen stärkeren Abbau von Eiweißstoffen und eine Verschiebung innerhalb der Globuline und Albumine des Serums bewirkt, die ihr Bindungsvermögen ändert. So konnte ich die Seren, die noch unter Eigenblutbehandlung standen (1 und 2) mit -┼ (┼ = Verfärbung ohne typische Blaufärbung, während ich die typische Blaufärbung je nach dem Grade mit -┼┼ und ┼┼┼ bezeichnete). Die dritte Probe (┼) (d. h. nur eine ganz schwache Verfärbung) war seit drei Tagen von der Eigenblut-

behandlung abgesetzt worden, sodaß die künstliche Hämolyse sich nur mehr sehr schwach auswirkte. Neben der Hämolyse als Fehlerquelle ist auch ein positiver Wassermann eine Beeinträchtigung der Probe, wie Lüttge und v. Mertz schon zeigten. (Lüttge und v. Mertz die Alkohol-Extrakt-Reaktion zum Nachweis der Schwangerschaft usw. S. 198ff.) Darauf ist wahrscheinlich einer meiner Fehlschläge, wenn nicht noch zwei andere unklare Fälle zurückzuführen (s. oben). Auch fieberhafte Zustände, Eklampsie und akute heftige Entzündungen verschieben den Ausfall der Probe nach der positiven Seite, Eklampsie macht den Ausfall der Reaktion immer positiv (Lüttge und v. Mertz s. oben S. 199ff.). Bei allen diesen Fällen soll man kein Blut serologisch untersuchen lassen und ein negativer Wassermann soll vorher festgestellt werden. Überall da, wo eine starke Aktivität eines Krankheitsprozesses besteht und wo die Senkungsgeschwindigkeit der roten Blutzellen als ihr Gradmesser stark erhöht ist, neigt auch die Alkohol-Extrakt-Reaktion zur positiven Seite (nach Lüttge und v. Mertz). Diese Zusammenhänge deuten auf eine Änderung des Serums bei obigen Krankheitsbildern in gleichem Sinne hin, wie sie bei der Schwangerschaft auftritt. Bei dieser ist die Senkungsgeschwindigkeit stark erhöht, stärker noch als bei akuten Infektionskrankheiten mit Entzündungsprozessen, bei chronischen hingegen besteht nur eine geringere Beschleunigung z. B. Carcinom, Lues und Tuberkulose. Erstere trüben die Diagnose regelmäßig, die chronischen hingegen bringen in der Regel nur eine Verfärbung mit sich, vor allem Carcinom und Lues. Die leichten Verschiebungen nach der positiven Seite beim Carcinom können die Differentialdiagnose zwischen Carcinom und Schwangerschaft schwierig machen. Man setzt zweckmäßig in solchen Fällen mit Placentaextrakt und Carcinomextrakt zugleich an, und vergleicht, welche Probe die stärkere Blaufärbung ergibt. Die stärker gefärbte Probe ist die positive, die andere muß man als negativ bezeichnen. So kann man sichere Ergebnisse erzielen, da meistens das Carcinom die Schwangerschaft ausschließt und umgekehrt. Tuberkulose beeinflußt die Reaktion hingegen nach den Er-

fahrungen Lüttges und v. Mertz's seltener. Eine Verlangsamung der Senkungsgeschwindigkeit tritt auf bei Herzinsuffizienz, schwerer Cyanose, Ikterus, extremer Kachexie und schwerer Anämie, sodaß vielleicht in Verbindung durch sie mit Schwangerschaft eine Verschiebung nach der negativen Seite auftreten könnte. Während der Menses ist die Senkungsgeschwindigkeit meistens erhöht, sodaß unter der Menstruation abgenommenes Blut auch hier eine Verfärbung nach der positiven Seite mit sich bringt. Unter Berücksichtigung dieser Tatsachen kann man mit großer Sicherheit zu einer serologischen Diagnose gelangen. Lüttge und v. Mertz haben etwa 3000 Fälle untersucht mit einer 92 bis 96 %igen Sicherheit (v. Mertz, Zentralblatt für Gynäk. 1928, Bl. Nr. 12).

Der Zusammenhang der Alkohol-Extrakt-Reaktion mit der Senkungsgeschwindigkeit wirft nun ein Schlaglicht auf die Erklärung der Reaktion. Wenn auch eine scharfe Theorie über die Senkungsgeschwindigkeit heute noch strittig ist, so steht doch fest, daß im Serum eine Verschiebung des Globulins stattfindet, das nach der Höberschen Anschauung an die roten Blutzellen gebunden wird. Auf diese Art und Weise erleidet der Serumeiweißkörper Veränderungen, die wiederum sein eigenes Bindungsvermögen den Säure-, Basen- und Salzionen gegenüber herabsetzen. Demnach müssen in einem Schwangerenserum mehr Ionen vorhanden sein. Fassen wir nun das Serum als disperses System auf, so haben wir als erste Phase den Serumeiweißkörper mit seinen verschiedenen Bindungsvermögen, als zweite Phase den Säure-Ionengehalt und als dritte Phase den Salzgehalt. Dieser beeinflußt die Probe im Sinne der Umkehrung der Hofmeisterschen Reihen im Neutralpunkt, der bei Zugabe eines Tropfens n 20 HCL nach der sauren Richtung überschritten wird. (Schade, Die phys. Chemie der inneren Medizin S. 24.) Die Salzionen, die vorher schrumpfend bezw. ausfällend wirken, werden nun quellend und lösend auf Eiweißkörper einwirken und umgekehrt. Das trifft für alle einwertigen Salzionen zu. Diese kommen für Serum und Extrakt hauptsächlich in Frage. Die zweite Phase, die Säure-Ionenkonzentration und

damit das P_h wechselt in dem Sinne, daß es bei Abnahme des Bindungsvermögens nach der saueren Seite verschoben wird (im Versuch nach Zugabe eines Tropfens n/20 HCL). Fällt in saurer Lösung das Bindungsvermögen der alkalisch aufgeladenen Kolloide, so steigt der Säure-Ionengehalt an. Das Ninhydrin reagiert dann positiv, wenn das P_h eine bestimmte Grenze, den Ninhydrinreaktionspunkt, erreicht hat. In alkalischer Lösung sind die Kolloide sauer aufgeladen (Schade s. oben S. 25), fällt hier das Bindungsvermögen, so steigt die Zahl der Kationen (Na, K usw.) an. Unsere Extrakte müssen also so eingestellt sein, daß sie bei Zugabe eines Tropfens n 20 HCL (hier kommt es sehr auf die Tropfengröße an) das Serum auf das P_h bringen, bei dem die Ninhydrinprobe gerade positiv wird. Dazu muß nach Lüttge und v. Mertz ein Placentarextrakt ein P_h von 2,72, ein Testextrakt das P_h von 2,63 und ein Carcinomextrakt ein solches von 2,42 haben. Demnach wäre der Ninhydrinreaktionspunkt am ehesten bei Zugabe von Placentaextrakt erreicht, bei Carcinomextrakt müssen wir die größte Menge HCL hinzugeben, Testextrakt liegt dazwischen. Ich habe unter Professor Felix mit Hilfe der Gaskettenmethode eine Anzahl von P_h-Bestimmungen in diesem Sinne gemacht, indem ich zunächst das P_h einer Reihe von placentapositiven Seren unter den gleichen Bedingungen nach 24stündigem Stehen bei Zimmertemperatur bestimmte. Hier lagen die Werte zwischen 8,31 und 8,42. Dann habe ich das P_h des Placentaextraktes bestimmt und fand einen Wert von 2,55, endlich das P_h eines Serumplacentarextraktgemisches mit obigen Seren, deren P_h's entsprechend zwischen 7,98 und 8,04 lagen. Sodann habe ich noch das P_h des alkoholischen Filtrats des obigen Gemisches analog dem Versuch festgelegt und es ergab sich hier ein Wert von 7,5 bis 7,6. Ein Tropfen n 20 HCL bringt bei diesen positiven Seren das alkoholische Filtrat auf den Ninhydrinreaktionspunkt, während bei negativen Seren er dazu nicht ausreicht. Welche Rolle die Tropfengröße der Salzsäure spielt, habe ich in Dortmund an den Städtischen Krankenanstalten erfahren, wo ich unter dem Chefarzt Dr. Engelmann eine Anzahl Versuche nach der Alkohol-

Extrakt-Reaktion ausgeführt habe. Bei den ersten 20 Proben zeigten die positiven eine auffallend schwache Verfärbung nach Ninhydrin- und Salzsäurezugabe, sodaß die Diagnosenstellung oft unmöglich war. Bei genauer Nachprüfung der Apparatur und Reagenzien fand ich, daß die Tropfengröße der Salzsäure zu klein war. Zwei Tropfen ergaben eine stärkere Färbung und bei Ersatz durch eine vorschriftsmäßige Bürette von der Firma Götze, Leipzig, wurde die Färbung gut. Ich konnte dann mit den gleichen Ergebnissen weiterarbeiten wie in Leipzig und München. Hat man nun ein vorschriftsmäßiges Extrakt vom P_h von 2,55 und eine gute erprobte Bürette, so fallen die Fehlerquellen, die Gragert in der Monatsschrift für Geb. und Gynäk. Januar 1929 angibt, nämlich die Tropfengröße und das Extrakt selbst, fort. Die dritte Fehlerquelle, die Gragert angibt, nämlich das Verhalten der Versuchspersonen (Nüchternbleiben) spielt auch nach meinen Erfahrungen keine Rolle, sodaß als einzige Fehlerquelle die „Kunst des Kochens" bleibt, und diese ist zweifellos sehr groß. Es gehört eine lange Übung und eine große Aufmerksamkeit dazu. Die von Gragert angegebene nur 82,4 %ige Sicherheit bei der Alkohol-Extrakt-Reaktion auf Schwangerschaft wird vielleicht auf eine noch nicht ganz geglückte Ausschaltung der oben genannten Fehlerquellen zurückzuführen sein; denn Gragert hatte z. B. für seine Extrakte ein P_h von 4,4 bis 4,7 gefunden. In Bezug auf die Versuche mit Carcinom- und Testektrakt fehlen mir die nötigen Erfahrungen. Hier kommt als unangenhme Eigenschaft hinzu, daß ein Carcinomserum mit Placentaextrakt angesetzt infolge des nahen Zusammenliegens ihrer P_h's immer leicht mit reagiert. In viel höherem Maße trifft dies bei den Versuchen mit Testextrakt zu und man kann hier nur mit Vergleichsproben nach den Farbunterschieden entscheiden. Die fabrikmäßig hergestellten Extrakte werden sicherlich nie so vollendet werden, wie die selbst hergestellten. Ich kann deshalb nur den Weg der Selbstbereitung empfehlen. Den Schlußfolgerungen Gragerts in Bezug auf Placentaproben schließe ich mich an. Er sagt, daß die Alkohol-Extrakt-Reaktion ein ausgezeichnetes, sehr wahrscheinliches

Schwangerschaftszeichen ist. Ihre klinische Verwertbarkeit käme zwar nur in Kliniken und großen Krankenanstalten mit geschulten Laborantinnen in Frage. Im übrigen empfiehlt sich, um die durch andere Krankheitsprozesse bedingten Fehlerquellen auszuschalten, gleichzeitig, wie Schmidt-Hannover im Zentralblatt für Gynäk. Nr. vom 26. Januar 1929 angibt, die Senkungsgeschwindigkeit zu bestimmen, da bei positivem Ausfall der Wert der Alkohol-Extrakt-Reaktion bei einer Senkungsgeschwindigkeit unter 30 Minuten zweifelhaft ist.

Wir haben gesehen, daß Abderhalden seine Reaktion als einen Fermentvorgang auffaßt. Substrat muß Serum oder Serum Substrat abbauen. Lüttge und v. Mertz haben gezeigt, daß die Alkohol-Extrakt-Reaktion auf einer Ionen-Reaktion beruht. Es erhebt sich die Frage, wie sich beide Erklärungen auf eine gemeinsame Grundlage bringen lassen. Aus den Versuchen Lüttges und v. Mertz's geht hervor, daß im Gegensatz zur Abderhalden'schen Reaktion auch andere Stoffe, wie Holundermarkkügelchen und amphotere Metalloxyde, die sie als Substrat benutzten, ebenso einen Abbau im Serum und eine positive Ninhydrinprobe ergaben. Auf diese Tatsache weist auch Schade hin (Schade s. oben S. 195). Es ist danach auch die Abderhaldensche Reaktion nicht spezifisch. Es müssen also Veränderungen in der Beschaffenheit des Serums vor sich gehen, die einen Abbau begünstigen und diese sind wahrscheinlich in einer Änderung des Dreiphasensystems zu suchen. Hasselbach fand nach der Gaskettenmethode im Serum Schwangerer das P_h deutlich nach der saueren Seite verschoben. (Schade s. oben S. 151.) Andererseits ändern sich auch hier die Eigenschaften des Serums z. B. das Säurebindungsvermögen, das wahrscheinlich durch eine Albumin-Globulinverschiebung im Sinne einer Globulinfällung bedingt ist (H. Sachs zitiert nach Schade s. oben S. 195). So läßt sich auf der Grundlage der Lehrmeinung der Alkohol-Extrakt-Reaktion auch die Abderhalden'sche Reaktion erklären. Zu den Änderungen der Eigenschaften des Serumeiweißkörpers gehört auch die Herabsetzung der Suspensionsstabilität, die sich in einer Erhöhung der Senkungsgeschwindig-

keit dartut (Schade s. o. S. 189). Wir haben bei der Schwangerschaft also eine Reihe in Zusammenhang stehender Veränderungen im Serum vor uns, deren gemeinsame Ursache aufzufinden, weiteren Forschungen vorbehalten bleibt.

Um die Fehlerquelle des Kochens bei der Alkohol-Extrakt-Reaktion auszuschalten und eine Brauchbarkeit für den praktischen Arzt durch weitere Vereinfachung zu erzielen, hat v. Mertz nach einem neuen Verfahren gesucht. Er hat sich die Veränderungen im Serumeiweiß für seine Forschungen zunutze gemacht. Er fand, daß das Serum von Schwangeren mit der gleichen Menge Leitfähigkeitswasser versetzt und dann mit n 10 HCL titriert eine früher auftretende Trübung ergab, als der gleiche Versuch mit Normalserum. Diese Trübung rief v. Mertz auch durch Phosphor-Wolframsäure hervor. Im März vorigen Jahres veröffentlichte er im Zentralblatt für Gynäk. Nr. 12 seine Versuche mit dieser neuen Reaktion, der v. Mertzschen Trübungsreaktion. Der Gang des Verfahrens sei auch hier kurz vorweggenommen. Zu 1 ccm Serum gibt man 1 ccm Phosphor-Wolframsäure von der Konzentration 2,8 g auf 1000 ccm Aqua dest. Dieses Doppelsalz ($HPO_3 + 12\,WoO_3$) muß einen Kristallwassergehalt von 12 H_2O enthalten. Nun tritt bei Schwangerenserum eine starke Trübung auf, die man nach einer halben Stunde gerade so wie bei der Meinicke'schen Trübungsreaktion in 2 Metern Entfernung gegen das Fensterkreuz abliest. Um die Probe noch mehr zu verdeutlichen, gibt man nach einer weiteren halben Stunde 2—3 Tropfen Bromphenolblau als Indikator hinzu. Das positive Serum färbt sich dann hellblau bis grün und bleibt trübe und undurchsichtig, während normales Serum blau wird und klar bleibt. Man führt die Probe am besten in Wassermannröhrchen von 14 mm Durchmesser aus. Der Übelstand des Kochens fällt somit ganz weg, aber es hat sich noch ein weiterer Vorteil ergeben. Man kann nämlich auch hier hämolytisches Serum verwenden, ohne daß der Ausfall der Probe beeinflußt wird. Damit werden die großen Vorsichtsmaßnahmen bei

der Blutabnahme überflüssig. Man kann jetzt dazu eine Spritze wie für den Wassermann verwenden. Ist das Serum gut abgestanden, so genügt es auch, dieses vorsichtig abzupipettieren. Vor allen Dingen ist die v. Mertz'sche Trübungsreaktion durch ihre große Einfachheit dazu geeignet, auch vom praktischen Arzt in der Sprechstunde ausgeführt zu werden und damit hat sie eine erhebliche Bedeutung gewonnen. Schwierig ist hierbei die Diagnose bei Seren nur, die schon von vornherein durch Fettstoffe (Lipoide) getrübt sind (bei fetten Personen).

v. Mertz veröffentlichte 180 Fälle, darunter 9 Fehlschläge, also eine 94 %ige Sicherheit. Die Fehlschläge waren bedingt durch ein inoperables Carcinom und entzündliche Adnexschwellungen, und ich haben in der II. Universitätsklinik für Frauenkrankheiten und Geburtshilfe in München 21 Versuche gemacht, darunter 15 positive und 6 negative. Unter den positiven befand sich ein Fehlschlag, nämlich ein doppelseitiger Adnextumor, der serologisch positiv reagierte. Die wenigen Versuche an der II. Universitätsklinik für Frauenkrankheiten und Geburtshilfe gestatten mir kein Urteil, geben aber Hoffnung, daß sich die Trübungsreaktion zu einem geeigneten Verfahren zum Nachweis der Schwangerschaft entwickeln wird.

Das Verfahren beruht zweifellos auf einem anderen Prinzip, als das der Alkohol-Extrakt-Reaktion. Wahrscheinlich spielen hier Veränderungen des Serumeiweißes im Sinne einer Globulinverschiebung die Hauptrolle. Nach v. Mertz beruht das Prinzip der Trübungsreaktion wahrscheinlich auf einer Veränderung des Lipoid-, Cholesterin- und Eiweißgehaltes im Serum Schwangerer (v. Mertz, Zentralblatt für Gynäk. Nr. 12 1928). Auch bei dieser Probe empfiehlt es sich, neben der Trübungsreaktion nach dem Vorschlag von Schmidt-Hannover die Senkungsgeschwindigkeit zu prüfen und, falls die Mittel zur Verfügung stehen, auch die Alkohol-Extrakt-Reaktion auszuführen (Zentralblatt für Gynäk. Nr. 4 1929).

Alles in allem kann gesagt werden, daß wir heute schon gute sero-diagnostische Hilfsmittel zum Nachweis der Schwangerschaft von der 6. Woche ab in der Hand haben. Ihre praktische

Brauchbarkeit muß zwar noch weitgehendst geprüft werden. Es war mir vor allem darum zu tun, die ganze Entwicklung der Serodiagnostik zum Nachweis der Schwangerschaft darzulegen, an Hand eigener Versuche ihren Wert nachzuprüfen und vielleicht auch einen Einblick zu geben in die serologischen Veränderungen im Blut Schwangerer, Carcinomatöser und anderer Patienten an Hand der verschiedensten Lehrmeinungen über die obigen Reaktionen.

Zum Schluß meiner Arbeit sei mir gestattet, Herrn Professor Weber für die freundliche Überlassung des Themas, für seine liebenswürdige Unterstützung und Übernahme des Referates, Herrn Geheimrat Sellheim für die freundliche Erlaubnis, an der Leipziger Frauenklinik die serologischen Verfahren zu erlernen, den Herren Dr. med. Lüttge und Dr. phil. v. Mertz für die gütige Unterstützung und Anregung bei ihrer Erlernung und Herrn Professor Felix für die freundliche Erlaubnis, in seinem Laboratorium die P_h-Bestimmungen ausführen zu können, ergebensten Dank auszusprechen.

Schriftenangabe.

Abderhalden: Die Abderhalden'sche Reaktion. 1922. Julius Springer, Berlin.

Gragert: Mon.-Schr. f. Geb. u. Gyn. Januar 1929.

Lüttge und v. Mertz: Die Alkohol-Extrakt-Reaktion zum Nachweis von Schwangerschaft, Carcinom, Geschlecht des Kindes etc. 1927. Verlag von S. Hirzel, Leipzig.

Mertz v.: Zentralblatt für Gynaekologie. Nr. 12. 1928.

Schade: Die physikalische Chemie der inneren Medizin. 1920. Theodor Steinkopf, Dresden, Leipzig.

Schmidt-Hannover: Zentralblatt für Gynaekologie. Nr. 4. 1929.

Lebenslauf.

Geboren wurde ich, Wilhelm Edelbrock, am 15. IV. 1901 in Iserlohn als Sohn des Fabrikanten Wilhelm Edelbrock.

Besuchte von Ostern 1911 bis Ostern 1922 das Realgymnasium zu Iserlohn, verließ dasselbe März 1922 mit dem Zeugnis der Reife.

Nach drei Semestern Rechtswissenschaft widmete ich mich im Herbst 1923 dem Studium der Medizin an den Universitäten Marburg a. d. L., Rostock und München.

Das Physikum legte ich in München am 29. Juli 1925 ab.

Die klinischen Semester verbrachte ich in Wien und München. Das Staatsexamen bestand ich am 24. Dezember 1928 an der Universität München.

Zur Zeit bin ich als Medizinalpraktikant an der II. medizin. Klinik (Geh.-Rat v. Müller) München tätig.